

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



EP00/3758

REC'D 30 MAY 2000

WIPO PCT

E3U

Bescheinigung

Die Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien in Düsseldorf/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verfahren zur selektiven Veresterung von Polyolen"

am 5. Mai 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole C 12 P, C 07 H und C 08 H der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 28. Februar 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Zeichen: 199 20 558.2

Wallner

Patentanmeldung

H 3572

Verfahren zur selektiven Veresterung von Polyolen

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur enzymatisch katalysierten Herstellung von Carbonsäureestern mehrwertiger Alkohole.

Auf chemischem Weg hergestellte oberflächenaktive Substanzen sind in der Regel aus Alkyl- oder Arylgruppen aufgebaut, die bei ionischen Tensiden als die Wasserlöslichkeit verstärkende Anteile Carboxylat-, Sulfonat, Phosphat- oder Ammoniumgruppen und bei den nichtionischen Verbindungen Alkohol- oder Polyethergruppen oder Zuckerreste enthalten. Von Vorteil ist bei derartigen Tensiden ihre über viele Jahrzehnte in großtechnischem Maßstab optimierte relativ einfache und preiswerte Herstellung. Ein Nachteil ist die relativ geringe Varianz bei den funktionellen Gruppen im lipophilen Molekülanteil. Als nachteilig wird auch oft empfunden, daß ein Großteil immer noch auf Erdöl als Rohstoffbasis angewiesen ist. Derartige Tenside werden in Lebensmitteln und in Pharmaprodukten daher nur in geringem Umfang eingesetzt. In Wasch- und Reinigungsmitteln sowie in Kosmetika basiert heute mindestens die Hälfte der verwendeten Tenside auf natürlichen Ölen und Fetten. Sogenannte Biotenside zeigen im Gegensatz zu den sogenannten chemischen Tensiden eine große Strukturvielfalt nicht nur im hydrophilen sondern auch im lipophilen Molekülanteil (S. Lang und F. Wagner in: *Biosurfactants and Biotechnology*, Ed.: N. Kosaric, W. L. Cairns und N. C. C. Gray, Verlag Marcel Dekker, New York, 1987, 25, 21-46). Meist handelt es sich um mikrobielle Sekundärmetabolite, die von Produzentenstämmen bevorzugt bei Wachstum auf lipophilen Substraten wie n-Alkanen oder Triglyceriden gebildet werden. Neben guter Umweltverträglichkeit zeigen diese Verbindungen oft auch interessante biologische Effekte wie zum Beispiel Membranaktivität oder Antibiotikawirkung, die sie für die industrielle Anwendung im Pharma-, Kosmetik- und Lebensmittelbereich zunehmend interessant erscheinen lassen. Hier werden bisher fast ausschließlich pflanzliche oder tierische Biotenside verwendet (V. Klekner und N. Kosaric in: *Biosurfactants: Production-Properties-Applications*, Ed.: N. Kosaric, Verlag Marcel

Dekker, New York, 1993, 48, 373-390), die nach aufwendigen Verfahren hergestellt werden. Hier besteht Bedarf nach einfacheren Methoden der Herstellung, welche derartige Substanzen in hoher Ausbeute und Reinheit zur Verfügung stellen.

Die Herstellung von Zuckerestern aliphatischer Carbonsäuren mit Hilfe üblicher Methoden der chemischen Synthese ist bekannt (J.C. Colbert, *Sugar Esters – Preparation and Application*, Noyes Data Corporation, New Jersey 1974). Die chemische Darstellung von Estern aus ungeschützten Zuckern, das heißt Verbindungen mit mehreren frei vorliegenden Alkoholfunktionen, und Carbonsäuren führt in aller Regel zu unspezifischen Gemischen aus ein- und mehrfach acylierten Zuckern, so daß die Einführung und Entfernung von Schutzgruppen notwendig ist, wenn man gezielt ein bestimmtes Produkt synthetisieren will. Durch den Einsatz aktivierter Carbonsäurederivate wie Säurechloriden oder Säureanhydriden entstehen zwangsläufig Beiprodukte und häufig auch unerwünschte Nebenprodukte, welche die Umwelt belasten, die Aufarbeitung erschweren und die Ausbeuten an gewünschtem Produkt vermindern. Auch die Herstellung von Zuckerestern aromatischer Carbonsäuren mit Hilfe derartiger üblicher Methoden der chemischen Synthese ist bekannt (A.F. Artamonov, L. F. Burkovskaya und G. V. Nikonov, *Khim. Prir. Soedin* 1994, 4, 561-562), wobei die vorstehend genannten Nachteile in gleicher Weise zum Tragen kommen.

Eine ebenfalls in der Literatur beschriebene Methode zur Gewinnung von Estern aus Zuckern oder Glycosiden und aromatischen Carbonsäuren sind Biotransformationen mit Pflanzenzellkulturen (M. Ushiyama, S. Kumagai und T. Furuya, *Phytochemistry* 1989, 28, 3335-3339). Jedoch werden von diesen Autoren lediglich analytische Ausbeuten beschrieben, da vermutlich durch Abbau- und Weiterreaktionen die Zuckerester schnell wieder in andere Komponenten überführt werden, so daß dieser Zugang wirtschaftlich nicht brauchbar ist.

Die am häufigsten beschriebene Methode zur Gewinnung aromatischer Ester von Zuckern beziehungsweise Glycosiden und aromatischen Carbonsäuren ist die Isolierung aus natürlich vorkommenden Quellen, insbesondere Pflanzen (P.C. Lyons, K.V. Woods und R. L. Nicholson, *Phytochemistry* 1990 29, 97-101; H. Shimomura, Y. Sashida, M. Oohara und H.

Teuma, *Phytochemistry* **1988**, 27, 644-646; Y. Kashiwada, G. I. Nonaka, I. Nishioka und T. Yamagashi, *Phytochemistry* **1988**, 27, 1473-1477; M. Nicoletti, C. Galeffi, I. Messana, G.B. Marini-Bettolo, J.A. Garbarino und V. Gambaro, *Phytochemistry* **1988**, 27, 639-641; Y. Kashiwada, G. I. Nonaka und I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32, 3461-3470). Niedrige Ausbeuten und der Einsatz teilweise hochgiftiger Lösungsmittel erschweren den Zugang zu den Zielverbindungen. Außerdem ist man bei diesem Vorgehen auf die Gewinnung der natürlich vorkommenden Vertreter beschränkt, strukturell auch nur gering abgewandelte Ester lassen sich so nicht erhalten.

In der Natur ist die Bildung derartiger Ester der letzte Schritt eines Biosyntheseweges, der durch verschiedene Enzyme aus der Gruppe der Acyltransferasen katalysiert wird. Diese Enzyme zeigen eine relativ hohe Flexibilität hinsichtlich der Acylgruppe, weisen aber eine sehr strenge Selektivität für das zu veresternde Alkohol-Substrat auf. Von erheblichem Nachteil ist dabei, daß sie stöchiometrische Mengen des entsprechenden Acyl-CoenzymA benötigen, was sie für die *in vitro* Synthese praktisch ungeeignet macht. Dennoch ist die enzymatische Kopplung aliphatischer Fettsäuren an einfache Zucker mit Hilfe derartiger Enzyme beschrieben worden. Das Problem der geringen Löslichkeit und Mischbarkeit von Zucker und Fettsäuren wurde hier durch verschiedene Methoden umgangen: i) Einsatz von polaren Lösungsmitteln wie Pyridin oder Dimethylformamid (J. Chopineau, F.D. McCafferty, M. Therisod und A.M. Klivanov, *Biotechnol. Bioeng.* **1988**, 31, 208-214), ii) Einführung von Schutzgruppen wie Isopropylidenacetalen oder Phenylborsäureestern um die Löslichkeit der Zuckerkomponente in organischen Lösungsmitteln zu erhöhen (K. Adelhorst, F. Björkling, S. E. Godtfredsen und O. Kirk, *Synthesis* **1990**, 112-115; C. Scheckermann, A. Schlotterbeck, M. Schmidt, M. Wray und S. Lang, *Enzyme Microb. Technol.* **1995** 17, 157-162), iii) Verwendung aktivierter Acyldonoren zur Erhöhung der Reaktionsrate (M. Therisod und A. M. Klivanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5638-5640), iv) Reaktion in einem weitgehend festen System unter Zusatz geringer Mengen eines organischen Lösungsmittels (L. Cao, A. Fischer, U. T. Bornscheuer und R. D. Schmid, *Biocatal. Biotransform.* **1997**, 14, 269-283).

Nachteile insbesondere der unter Nr. i) und ii) genannten Verfahren sind die Inaktivierung des Enzyms durch das Lösungsmittel, zusätzlich notwendige Syntheseschritte zur

Einführung und Abspaltung von Schutzgruppen, geringe Ausbeuten und der Einsatz von Lösungsmitteln, welche die Verwendung der Reaktionsprodukte in bestimmten Anwendungsbereichen, zum Beispiel dem Pharma- oder Lebensmittelbereich, stark einschränken. Als potentiell nachteilig wurde insbesondere bei dem unter Nr. iv) genannten Verfahren gefunden, daß die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte aus einem weitgehend festen Reaktionsgemisch oft nicht verlustfrei möglich ist und zudem bei dieser Verfahrensweise eine kontinuierliche Reaktionsführung erhebliche Schwierigkeiten bereitet.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß unter Einsatz einer Hydrolase und geringer Mengen eines organischen Lösungsmittels aus Polyolen wie Zuckern beziehungsweise Zuckerderivaten und nichtaktivierten Carbonsäurederivaten selektiv entsprechende Ester erhalten werden können.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung selektiv an der primären OH-Gruppe mit Carbonsäuren veresterten Polyolen, insbesondere Zuckern beziehungsweise Zuckerderivaten, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man das Polyol mit einem Carbonsäureester in Gegenwart eines organischen Lösungsmittels unter Katalyse einer Hydrolase, vorzugsweise einer Lipase oder Esterase, umsetzt.

Den Polyolen im Sinne der vorliegenden Erfindung ist zu eigen, daß sie eine primäre Alkoholfunktion und daneben noch mindestens eine weitere, sekundäre oder tertiäre Alkoholfunktion aufweisen. Insbesondere handelt es sich dabei um Zucker beziehungsweise Zuckerderivate. Beispiele hierfür sind Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose sowie die aus diesen zusammengesetzten Di-, Oligo- und gegebenenfalls Polymere. Zu den brauchbaren Zuckerderivaten gehören beispielsweise die oxidierten Abkömmlinge der genannten Verbindungen, wie die Aldonsäuren, Ascorbinsäure und Salicin. Die natürlich vorkommenden Isomere der Zucker, in der Mehrzahl die D-Formen, sind bevorzugt. Erfindungswesentlich ist, daß diese Verbindungen neben der für die Veresterungsreaktion notwendigen primären Alkoholgruppe mit mindestens einer freien, das heißt nicht mit einer Schutzgruppe versehenen sekundären oder tertiären Alkoholfunktion eingesetzt werden.

Die mit den genannten Polyolen zu veresternden Carbonsäuren gehorchen vorzugsweise der allgemeinen Formel $R\text{-COOH}$, wobei R ein gegebenenfalls hydroxysubstituierter Alkyl- oder Alkenylrest mit 6 bis 32 C-Atomen oder $AR\text{-(CH}_2)_n$ ist und AR ein gegebenenfalls alkyl- oder hydroxysubstituierter Phenyl- oder Naphthylrest und n eine Zahl von 0 bis 4 ist. Zu den bevorzugten Vertretern gehören Capronsäure, Önanthsäure, Caprylsäure, Pelargon-säure, Caprinsäure, Laurinsäure, Lauroleinsäure, Myristinsäure, Myristoleinsäure, Palmitin-säure, Palmitoleinsäure, Stearinsäure, Petroselin-säure, Petroselaidinsäure, Ölsäure, Elaidin-säure, Ricinolsäure, Linolsäure, Linolaidinsäure, Linolensäure, Eläostearinsäure, Arachin-säure, Gadoleinsäure, Arachidonsäure, Behensäure, Erucasäure, Brassidinsäure, Clupano-donsäure, Lignocerinsäure, Cerotinsäure, Melissinsäure, Phenylelessigsäure, Phenylbuttersäu-re, Phenylvaleriansäure und meta-Hydroxyphenylelessigsäure. Sie werden in Form nichtakti-vierter Derivate, insbesondere in Form ihrer Alkyl-, Alkylphenyl- oder Alkenylester eingesetzt, wobei niedere Ester wie Methyl-, Ethyl-, n-Propyl-, iso-Propyl-, n-Butyl-, sec-Butyl-, iso-Butyl-, tert-Butyl- oder Vinylester besonders bevorzugt sind.

Vorzugsweise weicht das im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Molverhältnis zwischen dem nichtaktivierten Carbonsäurederivat und dem Polyol nur möglichst gering von 1 ab und liegt insbesondere im Bereich von 0,8 bis 1,2, da dann die höchsten Ausbeuten an gewünschtem Produkt und die niedrigsten Mengen an Nebenprodukten auftreten.

Normalerweise wird erfindungsgemäß organisches Lösungsmittel in Mengen von etwa 0,1 bis 25 facher, insbesondere 0,5 bis 18 facher Gewichtsmenge an zu veresterndem Polyol eingesetzt, wobei man in einer bevorzugten Ausgestaltung des erfindungsgemäß Verfahrens die miteinander zur Reaktion kommenden Edukte in einem beide Edukte gut lösenden ersten Lösungsmittel miteinander umsetzt und nach Ende der Reaktion ein zweites Lösungsmittel zusetzt, in dem das entstehende Produkt möglichst wenig löslich ist. Zu den brauchbaren organischen Lösungsmitteln gehören zum Beispiel Dioxan, Acetonitril, Aceton, Ethylmethylketon, γ -Butyrolacton, Tetrahydrofuran, tert.-Butanol, tert.-Amylalkohol und 3-Methyl-3-pentanol sowie deren Gemische, wobei tert.-Butanol ein besonders bevorzugtes erstes Lösungsmittel und Aceton ein besonders bevorzugtes zweites Lösungsmittel ist. In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird als nichtaktiviertes Carbonsäurederivat ein Ester, beispielsweise ein Methylester, eingesetzt, der

nach Umsetzung mit dem Polyol einen Alkohol, beispielsweise Methanol, freisetzt, der mittels azeotroper Destillation aus dem Reaktionsgemisch entfernt wird. Bei dieser Verfahrensvariante wird das Lösungsmittel, beispielsweise Aceton, so gewählt, daß es mit dem zu entfernenden Alkohol ein Azeotrop bildet.

Zu den geeigneten Lipasen gehören beispielsweise die aus *Candida antarctica*, *Humicola lanuginosa*, *Rhizopus spec.*, *Chromobacterium viscosum*, *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, *Penicillium camembertii*, *Rhizomucor miehei*, *Burkholderia spec.* oder *Pseudomonas spec.* erhältlichen Enzyme. Vorzugsweise werden sie in fester Form, das heißt in bekannter Weise auf einem Trägermaterial immobilisiert, eingesetzt.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird vorzugsweise bei Temperaturen im Bereich von Raumtemperatur bis 80 °C, insbesondere 60 °C, durchgeführt.

Nach Beendigung der Reaktion kann das gewünschte Produkt mit Hilfe üblicher Methoden, zum Beispiel durch Extraktion mit einem geeigneten Lösungsmittel und gegebenenfalls weiterer Reinigung durch beispielsweise Kristallisation oder Chromatographie an Kieselgel, aus dem Reaktionsgemisch isoliert werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren erlaubt die chemo- und regioselektive Synthese eines breiten Spektrums bisher nur schwer zugänglicher oder überhaupt noch nicht beschriebener organischer Verbindungen, welche für die Anwendung im Kosmetik-, Lebensmittel-, Pharma- und Umweltsektor von Interesse sind.

Im Hinblick auf den oben zitierten Stand der Technik, insbesondere basierend auf Erfahrungen mit chemischen Reaktionen, mußte man erwarten, daß die Herstellung aus ungeschützten Zuckern und Fettsäurederivaten wie Fettsäureestern zu unspezifischen Gemischen aus mono- bzw. polyacylierten Zuckerestern führen sollte, verbunden mit den oben genannten Nachteilen. Desweiteren wurden mittels der erfindungsmäßigen Umsetzung Bedingungen entwickelt, welche auch die Umsetzung empfindlicher Substrate wie Vitamin C ohne Zerstörung durch Oxidationen – ein typisches Problem bei chemischen Methoden – erlaubt.

Überdies muß betont werden, daß gemäß der erfindungsmäßigen Umsetzung unter nur geringer Variation der Bedingungen eine sehr breite Palette verschiedenster Produkte in besseren Ausbeuten und höherer Reinheit unter schonenderen Bedingungen hergestellt werden kann, als dies gemäß den aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren möglich ist.

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen Produkte weisen Tensidstruktur auf, das heißt sie bestehen aus einem wasserlöslichen hydrophilen und mindestens einem gut fettlöslichen hydrophoben Molekülanteil. Das Größenverhältnis der Molekülanteile zueinander (Hydrophilic-Lipophilic-Balance oder HLB-Wert) und die darin enthaltenen funktionellen Gruppen bestimmen die Tensideigenschaften der jeweiligen Verbindung. Die erfindungsgemäße Umsetzung erlaubt eine sehr breite Varianz in der Verknüpfung unterschiedlicher Bausteine und damit die einfache Herstellung von Verbindungen unterschiedlicher HLB-Werte. Damit können tensidische Emulgatoren sowohl für Wasser-in-Öl- als auch Öl-in-Wasser-Emulsionen – ein Spektrum, welches für die Anwendung im Kosmetik-, Pharma-, Lebensmittel- und Umweltsektor von hohem Interesse ist – dargestellt werden.

Die Grenzflächenaktivität der nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen ist mit derjenigen chemisch oder fermentativ produzierter aliphatischer Zuckerester mindestens vergleichbar. Deutlich hervorzuheben ist die verbesserte Wasserlöslichkeit der erfindungsgemäß erhaltenen Produkte. Sie sind für den Einsatz als Emulgatoren insbesondere für Öl-in-Wasser-Emulsionen wie auch als tensidischer Bestandteil in Wasch- oder Reinigungsmitteln geeignet. Die Beeinflussung der grenzflächenaktiven Eigenschaften ist in einfacher Weise durch die Wahl entsprechender Acyldonoren möglich. Überdies sind die Verbindungen gut biologisch abbaubar.

Die pharmazeutische Wirksamkeit von nach dem erfindungsgemäßen Verfahren herstellbaren Verbindungen ist vielfältig. Biotenside zeigen nachweislich antibiotische Effekte und Membranaktivität. Darüber hinaus bietet die Umsetzung weitere interessante Möglichkeiten, da sie erlaubt, Wirkstoffe einen eher hydrophoben oder mehr hydrophilen Charakter zu verleihen. So können aromatische Carbonsäuren über die Glykosylierung einer Therapie mittels Infusionen zugänglich gemacht werden. Andererseits können

hydrophile Substanzen wie Vitamin C oder Glykoside wie Salicin mit hydrophoben Carbonsäuren verestert werden, so daß sie in Cremes gelöst oder in biologischen Membranen verankert werden können.

Glucoseester finden sich in therapeutisch wirksamen Pflanzen wie *Prunus spec.*, *Rheum spec.* oder *Thymus spec.*, welche zur Behandlung von bakteriellen und viralen Infektionen wie Erkältungen und Kopfschmerzen aber auch Beschwerden des Herzens und des Verdauungstraktes eingesetzt werden. Sie spielen unter anderem in der traditionellen chinesischen Medizin eine große Rolle. Dies erklärt, daß die Glucoseester von botanischen Instituten isoliert und bezüglich ihrer Wirksamkeit untersucht wurden (O.M. Abdallah, M.S. Kamel und M.H. Mohamed, *Phytochemistry* **1994**, 37, 1689-1692; J. Budzianowski und L. Skrzypczak, *Phytochemistry* **1995**, 38, 997-1001; M. Ushiyama, S. Kumagai und T. Furuya, *Phytochemistry* **1989**, 28, 3335-3339; Y. Kashiwada, G. I. Nonaka und I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32, 3461-3470). Wichtige Beispiele für die therapeutische Anwendung der nach dem erfindungsgemäßen Verfahren herstellbaren Ester sind der Effekt auf den Arachidonsäurestoffwechsel in Leukocyten durch Caffeoylglucose (Y. Kimura, H. Okada, S. Nishibe und S. Arichi, *Plant. Med.* **1987**, 53, 148-153), die Verhinderung von Metastasenbildung durch Galloylglucose (N. Ata, T. Oku, M. Hattori, H. Fujii, M. Nakajima und I. Saiki, *Oncol. Res.* **1996**, 8, 503-511) sowie die Inhibierung der Herpes simplex Replikation nach Infusion von aromatischen Glucoseestern enthaltenden Infusionen des *Verbascum thapsiforme* (A. Slagowska, I. Zgorniak-Nowosielska und J. Grzybek, *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* **1987**, 39, 55-61). Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht, ausreichende Substanzmengen für pharmakologische Studien und eine breite Anwendung bereitzustellen.

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung von 6-O-Palmitoyl- β -D-glucopyranose (B1)

5 mmol D-Glucose und 5 mmol Palmitinsäuremethylester (wird hier definiert als 1 Gewichtsteil) in der bezogen aus das Gewicht doppelten Menge an tert.-Butanol (entsprechend folglich 2 Gewichtsteilen) wurden unter Rühren (Magnetrührer, 250 UpM) auf ca. 75 °C erwärmt und über die weitere Reaktionsdauer bei dieser Temperatur gehalten. 0,15 Gewichtsteile immobilisierte *Candida antartica* B Lipase (SP 435, Hersteller Novo Nordisk) wurden zugegeben. Der Reaktionsfortgang wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach Reaktionsende wurden 10 Gewichtsteile warmen (ca. 50 °C) Acetons zugegeben und das Gemisch wurde bei 50 °C filtriert. Das Filtrat wurde auf -10 °C abgekühlt und das dabei ausfallende Produkt **B1** wurde durch Filtration in einer Ausbeute von 49 % isoliert. Schmelzpunkt: 135-136 °C. $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO/TMS}$): δ (ppm) = 1,03 (t, 3H, H-16'), 1,44 (m, 24H, H-4' bis H-15'), 1,69 (m, 2H, H-3'), 2,45 (t, 2H, H-2'), 3,21 (m, 1H, H-4), 3,31 (m, 1H, H-2), 3,60 (m, 1H, H-3), 3,95 (m, 1H, H-5), 4,18 (dd, 1H, $J = 6,23$ Hz, $J = 11,64$ Hz, H-6a), 4,44 (d, 1H, $J = 11,46$ Hz, H-6b), 4,71 (d, 1H, $J = 6,75$, OH-3 oder OH-2), 4,94 (d, 1H, $J = 4,82$, OH-4), 5,08 (dd, 1H, $J = 4,10$, $J = 3,97$, H-1), 5,22 (d, 1H, $J = 5,67$, OH-2 oder OH-3), 6,53 (d, 1H, $J = 4,61$, OH-1). $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ (ppm) = 13,11 (C-16', CH_3), 21,27 (C-15', CH_2), 23,64 (C-3', CH_2), 27,62 (C-4', CH_2), 27,89 (C-5', CH_2), 27,91 (C-6', CH_2), 28,10 (C-7', CH_2), 28,19 (C-8', C-9', CH_2), 28,23 (C-10', C-11', C-12', C-13', CH_2), 30,47 (C-14', CH_2), 32,60 (C-2', CH_2), 63,04 (C-6, CH_2), 68,29 (C-4, CH), 69,72 (C-5, CH), 71,35 (C-2, CH), 72,02 (C-3, CH), 91,45 (C-1, CH), 172,06 (C-1', C=O).

Beispiel 2: Herstellung von B1 unter kontinuierlicher Entfernung von Methanol

0,9 g D-Glucose und 1,35 g Palmitinsäuremethylester in 50 ml Aceton wurden in einem 2-Halskolben mit aufgesetztem Soxhlet-Extraktor (der mit aktiviertem Molekularsieb befüllt war) mit 0,5 mg immobilisierter *Candida antartica* B Lipase (SP 435, Hersteller Novo Nordisk) versetzt und unter Rühren (Magnetrührer, 200 UpM) und reduziertem Druck unter Rückfluß erhitzt (ca. 60 °C). Der Reaktionsfortgang wurde dünnschichtchromatographisch

verfolgt. Nach Reaktionsende wurde das Reaktionsgemisch wie in Beispiel 1 beschrieben aufgearbeitet. Man erhielt **B1** in einer Ausbeute von 67 %.

Beispiel 3: Herstellung von Salicin-Estern

In Analogie zum in Beispiel 2 beschriebenen Verfahren wurde Salicin ([2-(Hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid) mit verschiedenen Carbonsäuremethylestern umgesetzt und die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen selektiv an der primären Alkoholfunktion der Glucoseeinheit veresterten Salicine erhalten.

Verbindung	Reaktionstemperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
Salicinstearat (B2)	40 C	24 h	67 %
Salicinpalmitat (B3)	40°C	48 h	53 %
Salicinmyristat (B4)	35°C	48 h	29 %
Salicinphenylacetat (B5)	35°C	48 h	32 %

Die so hergestellten Salicin-Ester wurden NMR-spektroskopisch charakterisiert; die Spektren von **B3** und **B5** sind beispielhaft angegeben:

6-O-Palmitoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid (**B3**))

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 14,47 (C-16), 23,74 (C-15), 26,00 (C-3), 30,22 - 30,80 (C-4 - C-13), 33,08 (C-14), 35,03 (C-2), 60,98 (C-7*), 64,59 (C-6'), 71,64 (C-4'), 74,96 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,82 (C-3'), 103,22 (C-1'), 117,07 (C-6*), 123,82 (C-4*), 129,78 - 132,34 (C-2*, C-3*, C-5*), 156,98 (C-1*), 175,23 (C=O). Anal. berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_8$ (524,69): C, 66,39; H, 9,22. Gefunden: C, 67,88; H, 9,41.

6-O-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid (**B5**))

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 41,82 (C-2), 60,99 (C-7*), 65,03 (C-6'), 71,52 (C-4'), 74,94 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,77 (C-3'), 103,21 (C-1'), 117,11 (C-6*), 123,91 (C-4*), 127,89 (C-

6), 129,46 - 132,37 (C-2*,C-3*, C-5*; C-4, C-5, C-7, C-8), 136,12 (C-3), 156,95 (C-1*), 173,31 (C=O). Anal. berechnet für $C_{21}H_{24}O_8$ (404,41): C, 62,38; H, 5,98. gefunden: C, 63,96; H, 5,90.

Beispiel 4: Herstellung von Vitamin C Estern

In Analogie zum in Beispiel 2 beschriebenen Verfahren wurde Vitamin C (Ascorbinsäure) mit verschiedenen Carbonsäurevinylestern umgesetzt, wobei man in Abweichung zum Verfahren von Beispiel 2 mit Aceton/Methanol (3:1) extrahierte, und die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Vitamin C Ester erhalten. Verbindungen **B6** und **B8** wurden zusätzlich durch Extraction mit Chloroform/Wasser (1:1) gereinigt. Alle so erhaltenen Verbindungen wurden mittels NMR-Spektroskopie charakterisiert; das Spektrum von **B8** ist beispielhaft angegeben.

Verbindung	Reaktionstemperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
Ascorbyl-Palmitat (B6)	40°C	46 h	79 %
Ascorbyl-Laurat (B7)	40°C	34 h	70 %
Ascorbyl-Caproat (B8)	40°C	18 h	60 %

NMR-Spektrum von **B8**:

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 172,61 (COO im Ring des Ascorbyl-Restes), 170,29 (C-1), 152,39 (COH im Ring des Ascorbyl-Restes), 117,97 (COH bei COO im Ring des Ascorbyl-Restes), 74,92 (CH im Ring des Ascorbyl-Restes), 65,42 (CHOH Ascorbyl-Rest), 33,26 (C-2), 30,99 (C-6), 28,28 (C-4), 28,24 (C-5), 24,26 (C-3), 20,58 (C-7), 13,75 (C-8).

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von selektiv an der primären OH-Gruppe mit Carbonsäuren veresterten Polyolen, dadurch gekennzeichnet, daß man das Polyol mit einem Carbonsäurealkylester in Gegenwart eines organischen Lösungsmittels unter Katalyse einer Hydrolase, insbesondere einer Lipase oder Esterase, umsetzt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Hydrolase aus den aus *Candida antarctica*, *Humicola lanuginosa*, *Rhizopus spec.*, *Chromobacterium viscosum*, *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, *Penicillium camembertii*, *Rhizomucor miehei*, *Burkholderia spec.* oder *Pseudomonas spec.* erhältlichen Enzymen ausgewählt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Hydrolase in fester Form, insbesondere auf einem Trägermaterial immobilisiert, eingesetzt wird.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyol ein Zucker beziehungsweise Zuckerderivat ist.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Zucker aus Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose sowie den aus diesen zusammengesetzten Di-, Oligo- und gegebenenfalls Polymeren ausgewählt wird.
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Zuckerderivat aus den Aldonsäuren, Ascorbinsäure und Salicin ausgewählt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Carbonsäuren der allgemeinen Formel $R\text{-COOH}$ gehorchen, wobei wobei R ein gegebenenfalls hydroxysubstituierter Alkyl- oder Alkenylrest mit 6 bis 32 C-Atomen oder $AR\text{-(CH}_2)_n$ ist und AR ein gegebenenfalls alkyl- oder hydroxysubstituierter Phenyl- oder Naphthylrest und n eine Zahl von 0 bis 4 ist.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Carbon-

säure in Form niederer Alkylester wie der Methyl-, Ethyl-, n-Propyl-, iso-Propyl-, n-Butyl-, sec-Butyl-, iso-Butyl- oder tert-Butylester eingesetzt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Molverhältnis zwischen dem Carbonsäureester und dem Polyol nur möglichst gering von 1 abweicht und insbesondere im Bereich von 0,8 bis 1,2 liegt.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß man organisches Lösungsmittel in 0,1 bis 25 facher, insbesondere 0,5 bis 18 facher Gewichtsmenge an zu veresterndem Polyol einsetzt.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß man das organische Lösungsmittel aus Dioxan, Acetonitril, Aceton, γ -Butyrolacton, Tetrahydrofuran, tert.-Butanol, tert.-Amylalkohol und 3-Methyl-3-pentanol sowie deren Gemischen auswählt.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß man es bei Temperaturen im Bereich von Raumtemperatur bis 80 °C, insbesondere 60 °C, durchführt.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man als nichtaktiviertes Carbonsäurederivat einen Ester einsetzt und den aus diesem nach Umsetzung mit dem Polyol freigesetzten Alkohol mittels azeotroper Destillation aus dem Reaktionsgemisch entfernt.

Zusammenfassung**"Verfahren zur selektiven Veresterung von Polyolen"**

Bei der Herstellung an der primären OH-Gruppe veresterter Polyole aus entsprechenden Polyolen und Carbonsäuren, die einen aromatischen Ring enthalten, sollte unter Verzicht auf Einführung und Abspaltung von Schutzgruppen die Selektivität und Ausbeute verbessert werden. Dies gelang im wesentlichen dadurch, daß man das Polyol mit einem Carbonsäurealkylester in Gegenwart eines organischen Lösungsmittels unter Katalyse einer Hydrolase, insbesondere einer Lipase oder Esterase, umsetzte.

THIS PAGE BLANK (USPTO)